

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ANALÝZA SILIC V ROSTLINNÉM MATERIÁLU

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

MARKÉTA KOLONIČNÁ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ANALÝZA SILIC V ROSTLINNÉM MATERIÁLU

ANALYSIS OF ESSENCES IN SOME PLANT MATERIALS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

MARKÉTA KOLONIČNÁ

VEDOUcí PRÁCE
SUPERVISOR

RNDr. RENATA MIKULÍKOVÁ, Ph.D.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0878/2014	Akademický rok: 2014/2015
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Markéta Koloničná	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Analýza silic v rostlinném materiálu

Zadání bakalářské práce:

1. Literární rešerše - přehled silic ve vybraných druzích rostlin (levandule, máta); přehled metod stanovení
2. Optimalizace metod extrakce a analýzy vybraných silic
3. Vyhodnocení výsledků a diskuse

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Markéta Koloničná
Student(ka)

RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Máta peprná a levandule lékařská jsou aromatické byliny s léčivými i kořeninovými vlastnostmi. Jejich esenciální oleje slouží pro výrobu vonných látek používaných v kosmetice a potravinářství. V této práci byly analyzovány obsahové látky v levandulové a mátové silici, které byly vyextrahovány destilací s vodní parou, následně analyzovány plynovým chromatografem s hmotnostním detektorem. Cílem práce bylo zjistit, které látky silice obsahují. V levandulové silici byly v největším množství prokázány cineol, linalool, kafr a linalyl-acetát. V mátové silici byly v největším množství prokázány menthon a menthol.

ABSTRACT

The peppermint (*Mentha piperita*) and the lavender (*Lavandula angustifolia*) are the aromatic herbs with the healing and spices effects. Their essential oils serve to production of the aromatic substances, they are used in the cosmetic and the food industry. In this thesis were analyzed substances which are contained in lavender and peppermint oils. These oils were extracted through the distillation with the water steam, next they were analyzed by the gas chromatograph and the mass spectrometer. The aim of the thesis was found which substances contain these oils. In the lavender oils were proofed the highest amounts of the cineole, linalool and the linalyl-acetate. In the peppermint oils were proofed the highest amounts of the menthon and the menthol.

KLÍČOVÁ SLOVA

levandule, máta, silice, destilace s vodní parou, SPME, GC-MS

KEY WORDS

lavender, mint, essences, steam distillation, SPME, GC-MS

KOLONIČNÁ, M. *Analýza silic v rostlinném materiálu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 34 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studentky

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji paní RNDr. Renatě Mikulíkové, Ph.D. za vstřícnost, trpělivost a odborné vedení při realizaci této bakalářské práce. Dále děkuji kolektivu v laboratoři Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Brně.

Bakalářská práce byla vypracována v rámci projektu TAČR TE02000177 „Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků“.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1	Vybrané byliny	7
2.1.1	Levandule lékařská (<i>Lavandula angustifolia</i>)	7
2.1.2	Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)	8
2.2	Chemické složení silic	9
2.2.1	Fenylpropanoidy	9
2.2.2	Terpenoidy, terpenové uhlovodíky	10
2.2.2.1	Monoterpeny	10
2.2.2.2	Iridoidy	10
2.2.2.3	Seskviterpeny	10
2.2.2.4	Diterpeny	10
2.2.2.5	Triterpeny	11
2.2.2.6	Tetraterpeny	11
2.2.2.7	Terpenové alkoholy	11
2.2.2.8	Terpenové ethery	11
2.2.2.9	Terpenové aldehydy	11
2.2.2.10	Terpenové ketony	11
2.3	Metody izolace silic	11
2.3.1	Destilace s vodní parou	11
2.3.2	Extrakce rozpouštědlem	12
2.3.3	Extrakce na fluidním loži	12
2.4	Analýza silic	12
2.4.1	Plynová chromatografie	13
2.4.1.1	Zásobník plynné fáze	14
2.4.1.2	Zařízení k regulaci tlaku	14
2.4.1.3	Dávkovací zařízení	14
2.4.1.4	Kolona	14
2.4.1.5	Termostat	14
2.4.1.6	Detektor	14
2.4.1.7	Chromatografický záznam	16
2.4.2	Kapalinová chromatografie	16

2.4.2.1	Čerpadla	16
2.4.2.2	Dávkovací zařízení.....	17
2.4.2.3	Kolony.....	17
2.4.2.4	Detektory.....	17
2.4.3	Mikroextrakce tuhou fází – SPME.....	17
2.4.4	Dynamická extrakce vzorků na pevné fázi – SPDE.....	18
2.4.5	Headspace techniky.....	19
2.4.5.1	Statická headspace	19
2.4.5.2	Dynamická headspace.....	19
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
3.1	Materiál.....	20
3.2	Použité laboratorní vybavení	20
3.3	Chemikálie.....	20
3.4	Pracovní postup	20
3.4.1	Příprava extraktů	20
3.4.1.1	Destilace s vodní parou	20
3.4.2	Příprava standardních roztoků.....	21
3.4.2.1	Silice mátová.....	21
3.4.2.2	Silice levandulová	21
3.4.3	Analýza extraktu silic	21
3.4.3.1	Příprava vzorku silice.....	21
3.4.3.2	GC-MS	22
3.5	Validace metody	22
3.5.1	Mez detekce.....	22
3.5.2	Mez stanovitelnosti	22
3.5.3	Aritmetický průměr	22
3.5.4	Směrodatná odchylka	23
3.5.5	Relativní směrodatná odchylka	23
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	24
5	ZÁVĚR.....	31
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	32
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	34

1 ÚVOD

Veškeré vonné látky v přírodě produkují živé organismy, především rostliny. Jsou to látky senzoricky aktivní, což znamená, že je dokážeme vnímat smysly. Většinou jde o látky těkavé, které rostliny vytvářejí dvěma způsoby:

- biogenetickým procesem (mevalonátovým),
- fenylypropanovým procesem (šikimátovým).

Biogenetický proces se dá zjednodušeně popsat jako kondenzace isoprenových jednotek za přítomnosti specifického enzymu. Jako jeden z meziproductů se zde tvoří kyselina mevalonová, podle které byl celý proces pojmenován. Dále pak postupně vznikají terpenické látky, které se vyskytují v silicích. Jde například o limonen, pinen, citral, geraniol, linalool a mnoho dalších sloučenin [1].

Vonné látky obsahující aromatické jádro vznikají procesem fenylypropanovým. Výchozí látkou zde bývá glukosa. Jedním z meziproductů je kyselina šikimátová, nakonec však vzniká kyselina skořicová. Z ní dále biosyntetickými procesy vznikají aromatické sloučeniny, kumariny a jejich deriváty, a látky fenolické (eugenol) [1].

Silice obsahují uhlovodíky, kyslíkaté látky, alifatické a aromatické sloučeniny. Skládají se z isoprenových jednotek, řadí se mezi terpeny. Vonné a chuťové vlastnosti silic mají na svědomí většinou molekuly obsahující kyslík. Většinou jde o látky kapalné, nerozpustné ve vodě a rozpustné v ethanolu a jiných organických rozpouštědlech [1].

Silice se získávají z různých částí rostlin, například z květů (růže, jasmín, aj.), ze stonků, popřípadě z kvetoucích stonků (levandule, máta, aj.), z plodů a semen (kmín, jalovec, aj.), ze dřeva, z kořenů a oddenků, z listů nebo z pryskyřic produkovaných rostlinami [1]. Z přibližně 100 000 v současnosti popsaných druhů rostlin, necelé 2 000 obsahuje silice a v praxi je užitečných zhruba jen 200 [1].

Z rostlin lze silice získat různými způsoby. Většinou se využívá destilace s vodní parou, extrakce rozpouštědlem (petrolether, hexan) nebo lisováním a následným odstředěním [6].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vybrané byliny

2.1.1 Levandule lékařská (*Lavandula angustifolia*)

Je aromatická, léčivá rostlina z čeledi Hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Jde o vytrvalý, rozvětvený, stálezelený polokeř, rostoucí na prosluněných prostranstvích. Tradičně se pěstuje ve Francii, ale lze ji najít všude v Evropě [3]. Pro růst upřednostňuje hlinitopísčité půdy. Již po staletí byla využívána Řeky a Římany k výrobě parfémů a jako přísada do koupelí. Název levandule pochází z latinského *lavare*, mýt se. Květy se využívají k výrobě levandulového octa a oleje, nebo se přidávají do vonných pytlíčků. Listy, které jsou trpké, se užívají v kuchyni především jižní Evropy [5].

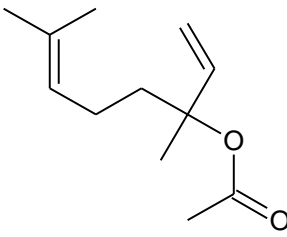
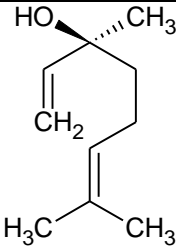

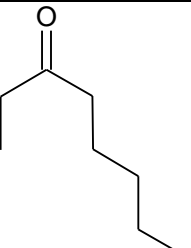
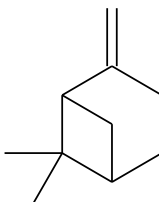
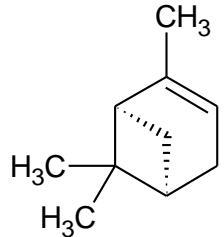
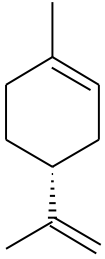
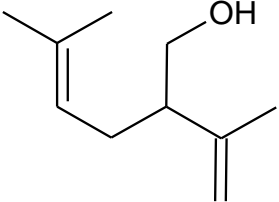
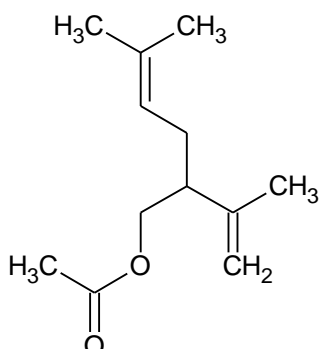
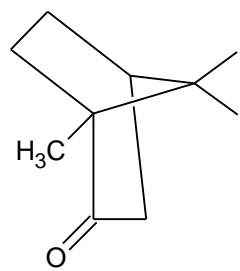
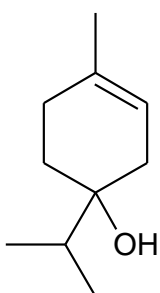
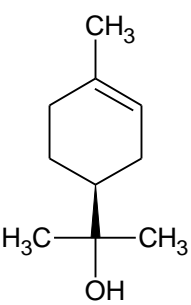
Léčivé účinky levandule jsou dány obsahem silic, které se vytvářejí ve žlázkách na květech, listech a lodyze. Příznivě působí na centrální nervovou soustavu, zlepšují trávení a chuť k jídlu. Levandulové esence mají antiseptické účinky, které jsou využívány při hojení ran, onemocnění dýchacích cest a zánětech [2], [5].



Obrázek 1: Levandule lékařská [11]

Levandulová silice obsahuje převážně linalyl-acetát (25–46 %) a linalool (20–45 %). Dalšími složkami silic jsou: cineol (jiný název pro eukalyptol), 3-oktanon, α -terpineol, terpinen-4-ol, kafr, limonen, lavandulol a lavandulyl-acetát [12]. Chemické struktury těchto látek jsou uvedeny v tabulce dole.

Tabulka 1: Chemické struktury látek levandulové silice

linalyl-acetát	linalool	cineol	3-oktanon
			
β -pinen	α -pinen	limonen	lavandulol
			
lavandulyl-acetát	kafr	terpinen-4-ol	α -terpineol
			

2.1.2 Máta peprná (*Mentha piperita*)

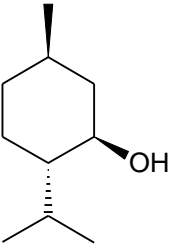
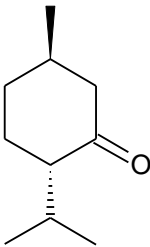
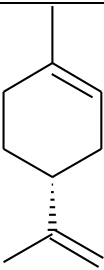
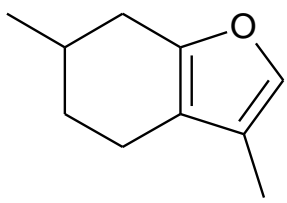
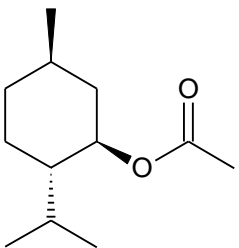
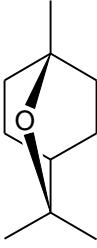
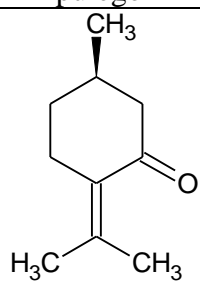
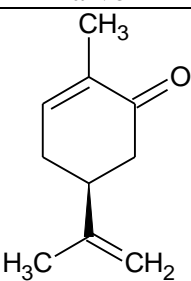
Máta peprná je léčivá bylina rovněž z čeledi Hluchavkovitých. Je 30 až 90 cm vysoká s přímou lodyhou, která se nahoře větví. Květy jsou růžové až nafialovělé barvy. Máta roste volně v přírodě, převážně v mírném pásu celého světa. Již po staletí Římané mátou dochucovali omáčky a víno. Nejlépe se jí daří na vlhkých, vápenitých půdách v polostínu. Listová silice, která obsahuje převážně menthol (30–55 %), se používá proti zápachu tabáku a pomáhá při silném nachlazení, chřipce a bolestech svalů [4], [5].



Obrázek 2: Máta peprná [10]

Mátová silice obsahuje kromě mentholu v největší míře také menthon (14–32 %). Mezi další látky přítomny v mátové silici patří: limonen, cineol, menthofuran, menthyl-acetát, isomenthon, pulegon a karvon [2], [14]. Chemické struktury jsou uvedeny v tabulce dole.

Tabulka 2: Chemické struktury látek mátové silice

menthol	menthon	limonen	menthofuran
			
menthyl-acetát	cineol	pulegon	karvon
			

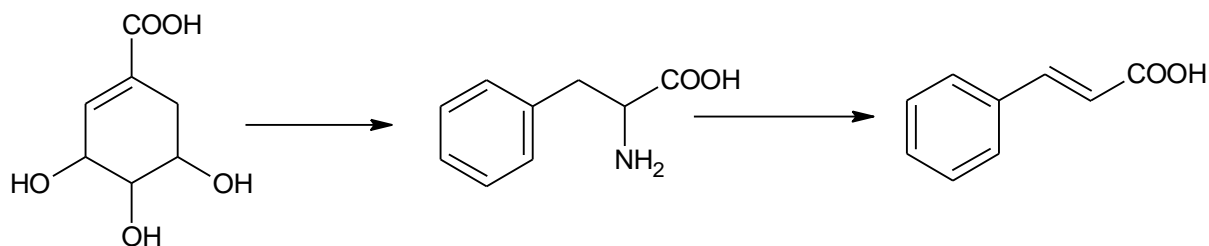
2.2 Chemické složení silic

Silice jsou složité směsi těkavých látek obsažené v přírodních rostlinných materiálech. Silice se dříve nazývaly také éterické oleje. Nejčastěji jsou tvořeny terpeny a terpenovými deriváty, alkoholy, aldehydy, ketony a karboxylovými kyselinami. Lze je rozdělit do dvou základních skupin podle jejich chemické struktury na terpenoidy a fenylpropanoidy [6], [26].

2.2.1 Fenylpropanoidy

Fenylpropanoidy ve své struktuře obsahují aromatické jádro, na kterém je navázán další uhlíkatý zbytek. Biogeneticky se vychází z kyseliny šikimové a přes fenylalanin se získává kyselina skořicová (strukтуры viz Obrázek 3). Ta dále podléhá redukčním reakcím za účelem

tvorby fenylpropanoidů. Fenylpropanoidy dle struktury dělíme na aldehydy a deriváty fenylpropenu [6], [26].



Obrázek 3: Kyselina šikimová (vlevo), fenylalanin (uprostřed), kyselina skořicová (vpravo)

2.2.2 Terpenoidy, terpenové uhlovodíky

Terpenové uhlovodíky se jinak nazývají také terpenoidy nebo isoprenoidy. Základní jednotkou je isopren. Prekursorem terpenoidů je kyselina mevalonová (struktura je uvedena v tabulce Tabulka 3). Terpenové uhlovodíky lze dělit podle počtu uhlíků, dle struktury na cyklické a necyklické a dle funkčních skupin na alkoholy, aldehydy, ketony, estery, apod. [6], [26].

Tabulka 3: Chemické struktury

isopren	kyselina mevalonová

2.2.2.1 Monoterpeny

Jde o desetiuhlíkaté sloučeniny, které jsou hlavní složkou těkavých silic. Jsou cyklické i necyklické, v přírodě se často vyskytují jako kyslíkaté deriváty, tedy alkoholy, aldehydy a ketony. Patří sem například linalool, menthol, thymol, aj [1], [6], [26].

2.2.2.2 Iridoidy

Iridoidy mají monoterpenový základ, ale jejich vlastnosti se od monoterpenů zcela liší. V přírodě se vyskytují ve formě glykosidů. Jde převážně o deriváty cyklopentanu [1], [6].

2.2.2.3 Seskviterpeny

Základní skelet obvykle obsahuje 15 uhlíků, rozlišujeme seskviterpeny cyklické a necyklické. Tvoří jednu z hlavních složek silic, např. azuleny [6], [26].

2.2.2.4 Diterpeny

Sloučeniny tvořící 20 uhlíků, necyklické jsou velmi vzácné a mají snahu se zacyklit, tedy zaujmout co nejmenší prostor. Patří zde například retinol, dehydroretinol, pikrosalvin, aj. [1], [6].

2.2.2.5 Triterpeny

Triterpeny jsou sloučeniny tvořící 30 uhlíků. Jde o skupinu přírodních látek steroidní povahy (steroidy, hormony, aj.) a triterpenoidy (saponiny, aj.) [6], [26].

2.2.2.6 Tetraterpeny

Základní skelet je tvořen 40 uhlíky. Nazývají se jinak karotenoidy, obsahují barviva lipofilní povahy (žlutá a červená), například β -karoten [1], [6].

2.2.2.7 Terpenové alkoholy

Alkoholy, především monoterpenové, jsou nositeli sladké, květinové vůně. Nejvýznamnějším takovým alkoholem je linalool, který obsahuje např. levandule. Patří sem také ale citronelal, graniol, nerol aj. [1],[6].

2.2.2.8 Terpenové ethery

Ethery jsou složkami vyskytujícími se v různých druzích koření. Např. anetol obsahuje silice fenyklová a anýzová a methyleugenol silice hřebíčková. Dalším příkladem je myristicin, což je látka, kterou obsahuje silice muškátového oříšku. Ve velkém množství však vykazuje halucinogenní vlastnosti [1], [6].

2.2.2.9 Terpenové aldehydy

Nejčastěji vyskytujícím se aldehydem je citral, který je jednou z hlavních složek silice citronové a zázvorové. Dalším významným aldehydem je aromatický benzaldehyd, který voní po hořkých mandlích, a je tudíž složkou mandlové silice. Nejvýznamnějším hydroxyderivátem aromatických aldehydů je vanilin, který je základní složkou silice vanilkové [1], [6].

2.2.2.10 Terpenové ketony

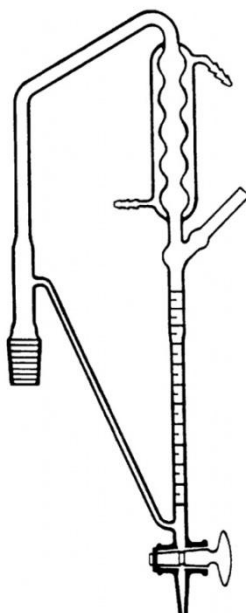
Mezi ketony patří např. 2-pentanon, který je složkou skořicové silice a mnoha silic různých květin. Nejznámější jsou monoterpenové ketony k nimž patří třeba menthon, vyskytující se právě v mátové silici. Patří zde také pulegon, kafr, aj. [1], [6].

2.3 Metody izolace silic

Silice mohou být obsaženy v celé rostlině, nebo je jejich výskyt omezen na určitou část rostliny – květ, list, lodyha nebo plod. Získání silic je ve většině případů náročným postupem. K jejich extrakci jsou používány především metody destilace s vodní parou, extrakce rozpouštědlem, extrakce na fluidním loži, macerace apod.

2.3.1 Destilace s vodní parou

Nejčastěji používanou metodou pro získání silic je destilace s vodní parou. Destilací s vodní parou se dělí látky málo rozpustné ve vodě. Rostlinný materiál je umístěn v proudu páry. Destilace se provádí na speciálním nástavci (viz Obrázek 4), kde dojde k oddestilování silic a stanoví se jejich obsah ve vzorku. Je-li silice těžší než voda, používá se pro destilaci směs vody a glycerolu. Vzhledem k užití zvýšené teploty může dojít k tepelné degradaci vonných látek. Kvůli nízké selektivitě destilace se někdy provádí také dodatečná purifikace extraktu použitím extrakce pevnou fází (SPE). Destilace s vodní parou se užívá pro izolaci prchavých látek a následně je vyizolovaná látka analyzována headspace technikou [7].



Obrázek 4: Speciální nástavec pro destilaci silic [15]

2.3.2 Extrakce rozpouštědlem

Extrakce je metoda, která je založena na distribuci složky mezi dvě fáze, tuhou a kapalnou nebo dvě kapalně nemísitelné fáze. Přímá extrakce rozpouštědlem je nejjednodušší a nejvíce užívaná extrakční metoda.

Extrakce kapalina – kapalina umožňuje mnoho rychlých dělení různých látek v širokém rozmezí koncentrací. Vonné látky lze obvykle přímo extrahovat do vhodného rozpouštědla.

Výhodou přímé extrakce je, že veškeré látky jsou izolované v jediné operaci. Nutný je správný výběr rozpouštědla. Důležité je, aby mělo vhodnou polaritu, teplotu varu, viskozitu, polaritu a zdravotní nezávadnost. Nejčastěji se užívají organické látky s nízkou teplotou varu, například ethanol, methanol, aceton, chloroform, ether, aj [6], [7], [27].

2.3.3 Extrakce na fluidním loži

Vzorek je u této metody dávkován do extrakční patrony a extrahován vhodným rozpouštědlem. Rozpouštědlo se zahřívá až k bodu varu a jeho páry pronikají přes filtr do extrakční trubice. V chladiči pak páry kondenzují a rozpouštědlo kape na vzorek v extrakční patroně. Jde o velice efektivní extrakční metodu. Výhodou je, že může být extrahováno více vzorků současně a vše kontroluje počítač [21].

2.4 Analýza silic

K analýze silic se využívají chromatografické metody. Jsou to metody separační, při kterých dochází k rozdělení jednotlivých složek obsažených ve vzorku. Vzorek se vnáší mezi dvě fáze – mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou). Mobilní fáze vzorek unáší po stacionární fázi, na které se složky zachycují. Z hlediska geometrického uspořádání stacionární fáze se rozlišuje chromatografie kolonová a plošná (planární). Nejčastěji se využívá plynová a kapalinová chromatografie [6], [16].

Někdy se může použít k zakoncentrování vzorku před analýzou mikroextrakce tuhou fází ve spojení s headspace technikou.

2.4.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography) patří mezi separační metody, je vhodná pro analýzu těkavých látek, které je možno převést do plynného stavu. Používá se především pro separaci organických látek, které mají bod varu nižší než 400°C. Mobilní fází je inertní plyn, který je málo viskózní a stlačitelný [6], [16].

Základní části plynového chromatografu jsou:

- zásobník plynné fáze,
- zařízení k regulaci tlaku,
- dávkovací zařízení,
- kolona,
- termostat,
- detektor,
- zařízení ke zpracování signálu a jeho záznam,
- vyhodnocovací zařízení.



Obrázek 5: Plynový chromatograf ve spojení s hmotnostním detektorem

2.4.1.1 Zásobník plynné fáze

Nosný plyn bývá umístěn v tlakových lahvích. Jedním z rozhodujících faktorů při jeho výběru je typ použitého detektoru a kolony. Je nutné, aby plyn byl inertní vůči složkám vzorku a nebyl toxický. V praxi se nejčastěji využívá dusík, vodík, helium a argon. Z fyzikálních vlastností plynů se zde uplatňuje hustota a viskozita, kvůli ovlivňování průtoku plynu kolonou [6], [16].

2.4.1.2 Zařízení k regulaci tlaku

Udržování správného průtoku plynu kolonou je velice důležité. Průtok nosného plynu ovlivňuje kvalitativní i kvantitativní analýzu. Vytvořením tlakového spádu před kolonou můžeme nejlépe regulovat průtok, změny tlaku v koloně jsou pak zanedbatelné [6].

2.4.1.3 Dávkovací zařízení

Dávkovače (injektory) slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Účinnost kolony a přesnost výsledků závisí na způsobu dávkování. Vzorek je nutno v co nejkratší době vpravit do kolony, přičemž se nesmí změnit tlakové podmínky v koloně a dávkování musí být reprodukovatelné. Plyny se dávkuje nejčastěji injekčními stříkačkami přes pryžové septum, dříve se používaly také obtokové dávkovací kohouty. Dávkování vzorků se liší v závislosti na typu kolony. Do kapilárních kolon je nutno dávkovat vzorky ve velmi malém množství. V náplňových kolonách je větší množství stacionární fáze a kolona se nezahltí, ani když se nadávkuje větší množství vzorku. Nástřiky plynné fáze mohou být prováděny také pomocí statických nebo dynamických head-space systémů [6], [16].

2.4.1.4 Kolona

Kolony se v plynové chromatografii užívají náplňové nebo kapilární. Klasické náplňové kolony se vyrábějí z nerezové oceli, hliníku, skla, polyetylenu a teflonu. Délka kolony bývá většinou 30 až 400 cm. Mikronáplňové kolony bývají zhotoveny ze skla a bývají delší než ty klasické. Vnitřní průměr je asi 1 mm. Kapilární kolony se nejčastěji zhotovují z taveného křemene a nerezové oceli. Jejich vnitřní stěny jsou potaženy stacionární fází. Délka kolony se volí v rozmezí 10 až 200 m s vnitřním průměrem 0,1 – 0,6 mm. Obecně platí, že čím je větší tloušťka stacionární fáze, tím dochází k větší zadrži a tím i k lepší separaci [6], [16], [17].

2.4.1.5 Termostat

Termostaty regulují příkon tepla v prostoru, ve kterém je umístěna chromatografická kolona. Umožňuje udržet její konstantní teplotu. Zvýšení teploty kolony vede ke zvýšení tlaku par složky vzorku a k snížení retenčního času. V současnosti se využívají nejčastěji termostaty teplovzdušné. Vzduch bývá po zahřátí vháněn přes ventilátor do prostoru, kde jsou umístěny kolony. Termostat zajišťuje, aby byl vzorek udržován v plynném stavu [6], [16].

2.4.1.6 Detektor

Detektory mají za úkol detekovat složky, které vycházejí ven z kolony. Reagují na změny složení protékající mobilní fáze, které převádí na měřitelné veličiny. Mezi základní posuzované vlastnosti detektorů patří citlivost, šum signálu, odezva a hmotnostní průtok.

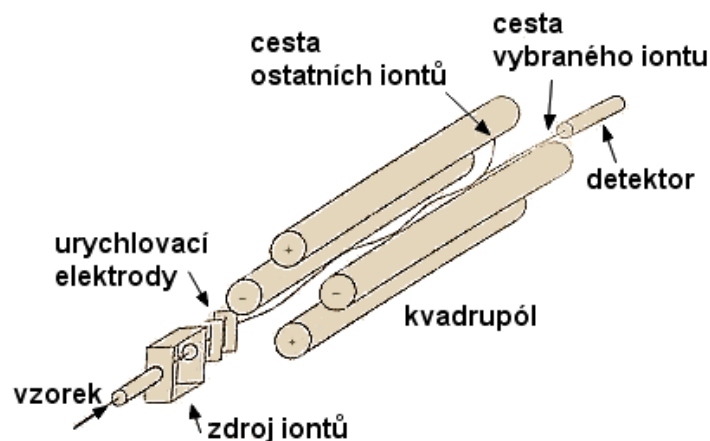
Nutná je rychlá odezva a velká citlivost. Důležitá je také dobrá stabilita signálu a nízký šum [6], [16].

Nejuniverzálnější detektor je **tepelně-vodivostní (TCD)**. Nosný plyn zde proudí přes žhavené vlákno elektrickým proudem a ochladí je na určitou teplotu. Přítomnost složky změní tepelnou vodivost prostředí kolem žhaveného vlákna, tím i jeho teplotu a odpor. Obvykle se pracuje se dvěma žhavenými vlákny. Přes jedno proudí čistý nosný plyn a přes druhé plyn z kolony. Citlivost tepelně-vodivostního detektoru lze zvýšit zvětšením žhavicího proudu nebo použitím nosného plynu s velkou tepelnou vodivostí [6], [16].

Ionizační detektory jsou založeny na vedení elektřiny v plynech. Plyny jsou za normálních podmínek elektricky nevodivé. Jejich vodivost lze zvýšit přítomností elektricky nabitých částic. Nositel ionizační energie je nejčastěji plamen v plamenovém ionizačním detektoru nebo radioaktivní záření v detektoru elektronového zachytu. Nejpoužívanější je detektor **plamenový ionizační (FID)**. Analyt, který je unášen nosným plynem z kolony se spaluje v plazmě kyslíkovodíkového plamene, který hoří mezi dvěma elektrodami. Anoda je kovová část hořáku a katoda je kovová síťka nebo trubička, která je umístěna nad plamenem. Organické látky se teplem štěpí na radikály $\cdot\text{CH}$ a ty se pak oxidují za vzniku iontů CHO^+ a elektronů, což je rozhodující pro odezvu detektoru. Výhodou je dobrá stabilita signálu a rychlá odezva. Detektor **elektronového zachytu (ECD)** pracuje na principu zachycování elektronů elektronegativními atomy, funkčními skupinami nebo molekulami. Účinkem radioaktivního záření β se ionizuje nosný plyn a dochází ke vzniku kationtů a elektronů. ECD je vysoce selektivní k látkám obsahujícím atomy halogenů, síry, olova, fosforu, k nitrosloučeninám a k aromátům [6], [16], [17].

Velký význam má také spojení plynového chromatografu s **hmotnostním spektrometrem (MS)** viz Obrázek 5. Hmotnostní spektrometrie (MS – Mass Spectrometry) je instrumentální technika, která vzorek převádí na ionizovanou fázi a vzniklé ionty separuje podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje. Ionizace převážně nastává nárazem prudce letících elektronů. Jako hmotnostní analyzátor bývá používán kvadrupól nebo kvadrupólová iontová past [16], [18], [19].

Kvadrupól je magnetický analyzátor (viz Obrázek 6), u kterého dochází k separaci iontů průchodem mezi čtyřmi kovovými tyčemi, na něž je vloženo stejnosměrné napětí. Aby ionty pronikly polem, musí se podrobit oscilaci, která se udržuje konstantní. Stabilita iontů závisí na hodnotě podílu hmotnosti a náboje. Částice s rozdílnou hodnotou jsou z elektrického pole vyneseny ven a zadrženy elektrodami [16], [19].



Obrázek 6: Kvadrupól [22]

2.4.1.7 Chromatografický záznam

Signál detektoru je zaznamenán na chromatogramu, který znázorňuje, v jakém sledu separované složky opustily chromatografickou kolonu. K identifikaci látky slouží umístění maxima píku v chromatogramu. Z chromatogramu lze vyčíst retenční čas t_R . Je to doba, kterou molekula složky stráví v chromatografické koloně. Retenční čas se dále dělí na dobu, kterou molekula stráví v mobilní fázi (mrtvý retenční čas t_M) [7], [16].

2.4.2 Kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie se užívá k separaci směsí látek, které nejsou těkavé a jsou termicky labilní. Mobilní fázi zde tvoří kapalina a stacionární fázi sorbent, který je umístěn plošně nebo v koloně. V plošném uspořádání rozlišujeme chromatografii papírovou a tenkovrstvou. V kolonovém uspořádání jde o chromatografii klasickou sloupcovou nebo nejčastěji využívanou *vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii – HPLC*. Separace látek se provádí na kolonách se stacionární fází o velikosti částic 3 – 10 μm . Vzorek vstupující do kolony je unášen a zároveň rozdělován tokem mobilní fáze [16], [17].

Kapalinový chromatograf se skládá ze:

- zásobníku mobilní fáze,
- čerpadla,
- směšovacího zařízení,
- dávkovacího zařízení,
- kolony,
- detektoru,
- vyhodnocovacího zařízení.

2.4.2.1 Čerpadla

Mobilní fáze se do kolony čerpá pístovými nebo membránovými čerpadly. Základním požadavkem na čerpadlo je dlouhodobá konstantnost průtoku a pracovní tlak minimálně

10 MPa. Materiál čerpadla nesmí být narušován mobilní fází a nesmí do ní uvolňovat žádné látky [16].

2.4.2.2 Dávkovací zařízení

Konstrukce dávkovače může ovlivnit účinnost separace. Při nedokonalém dávkování může docházet k rozšiřování elučních zón. Dávkování probíhá přímým nástřikem vzorku injekční stříkačkou na vrstvu sorbentu v koloně přes septum nebo pomocí dávkovací smyčky [6], [16].

2.4.2.3 Kolony

Kolony pro HPLC jsou rovné trubice s hladkým vnitřním povrchem z materiálu, který musí být odolný vůči vysokým pracovním tlakům (až 60 MPa) a chemickému působení mobilních fází. Nejčastěji se vyrábí z antikorozi oceli nebo z borosilikátového skla. Jako ochrana před nečistotami hlavní kolony se používá předkolona, která je umístěna mezi čerpadlem a dávkovacím zařízením [6].

2.4.2.4 Detektory

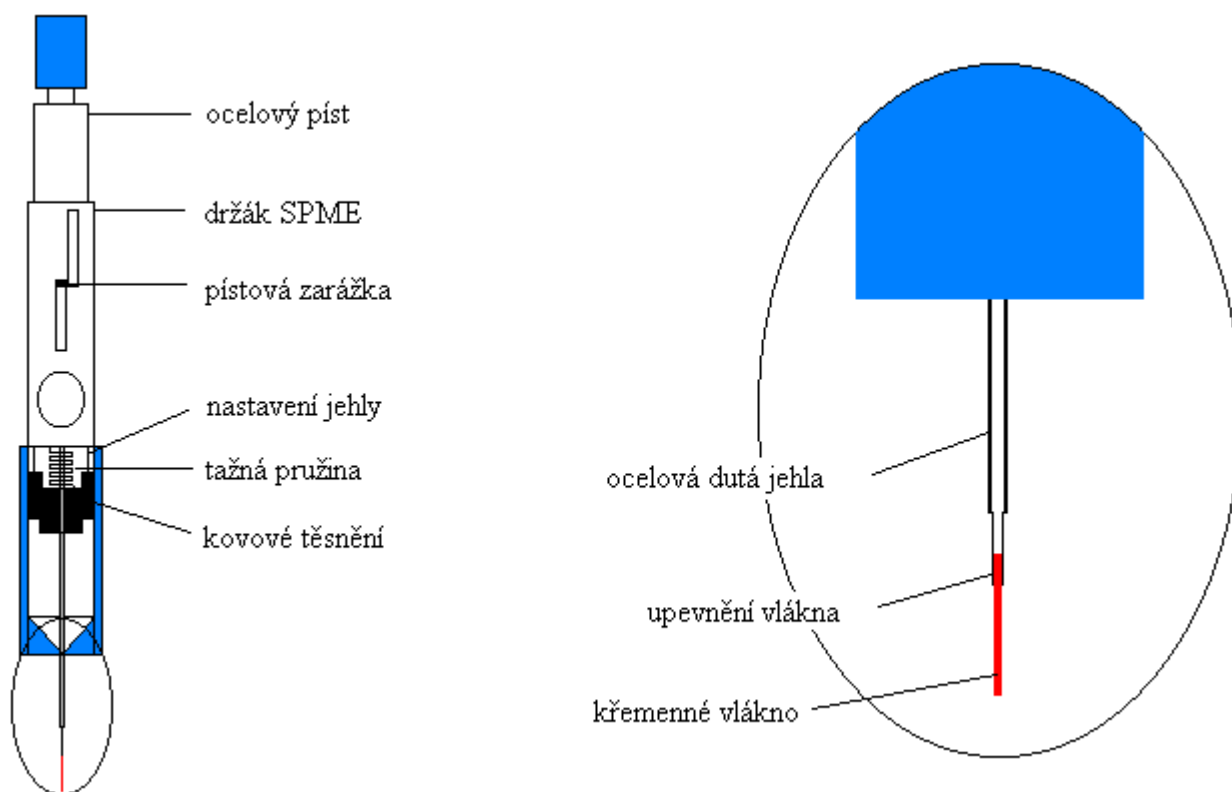
Detektory pro kapalinovou chromatografii by měly mít okamžitou odezvu, vysokou citlivost, nízký šum a minimální vliv změny tlaku a teploty. **Spektrofotometrické (UV-VIS)** detektory patří k nejpoužívanějším. Měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony. Existuje několik konstrukčních typů. Vysoce selektivní a citlivý je detektor **fluorimetrický**. Používá se k detekci látek, které vykazují fluorescenci. **Refraktometrický** detektor umožňuje detekci téměř všech látek. Jeho odezva závisí na teplotě. Měří změnu indexu lomu mobilní fáze. **Vodivostní** detektory se používají k detekci iontů v iontové výměnné chromatografii. Sleduje se změna vodivosti mobilní fáze mezi dvěma elektrodami s vloženým střídavým napětím. Stejně tak, jako u plynové chromatografie, se i u kapalinové chromatografie používá **hmotnostní** detektor [6], [16], [17].

2.4.3 Mikroextrakce tuhou fází – SPME

Jde o velice účinnou, moderní techniku zkoncentrování analytu, při které nejsou potřeba žádná další rozpouštědla ani složité aparatury. Metoda SPME se užívá ve spojení s plynovou a kapalinovou chromatografií [8]. Vláknو SPME je na obrázku (Obrázek 7).

Nejdůležitější částí zařízení je křemenné vlákno pokryté stacionární fází, které je ve spojení s ocelovým pístem umístěným v duté jehle. Stacionární fáze je polymerní materiál. Jehla se zde užívá jako ochrana před mechanickým poškozením [8], [9].

Proces je rozdělen do dvou fází. Nejprve se analyt extrahuje na křemenné vlákno a pak se zpět desorbuje v chromatografickém přístroji. Jehla s vláknem se zasune do vzorku, po dosažení sorpční rovnováhy se vlákno zatáhne zpět do jehly a vloží se do nástřikového prostoru chromatografu [20].



Obrázek 7: SPME, detail na vlákno

Výsledky vysoce ovlivňuje tloušťka a polarita stacionární fáze, pH, způsob vzorkování, teplota roztoku a iontová síla roztoku. Silnější vrstva stacionární fáze umožňuje vyextrahování většího množství analytu než vrstva tenká, proto se vlákno se silnější vrstvou používá při analýze těkavých látek [10], [20].

Metoda SPME umožňuje provádět dva způsoby extrakce:

- přímá SPME (DI-SPME), při které dochází k ponoření vlákna přímo do vzorku,
- headspace SPME (HS-SPME), kdy jde o extrakci analytu z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě, užívá se pro extrakci těkavých látek [9].

SPME se užívá zejména v oblasti životního prostředí, ve farmaceutickém průmyslu, v potravinářské chemii a v toxikologii.

2.4.4 Dynamická extrakce vzorků na pevné fázi – SPDE

Další moderní technologie je SPDE, která pracuje obdobně jako SPME s tím rozdílem, že sorbent je nanesen uvnitř jehly plynotěsné stříkačky. Opakovaným nabíráním kapalně nebo plynné fáze vzorku dochází k jeho zakoncentrování uvnitř jehly. Desorpce vyextrahovaných látek se provádí tepelně přímo do nástřiku. Umožňuje dynamickou extrakci vzorků, protože je zde větší plocha povrchu a větší množství extrakční fáze. Průměrná životnost jehly SPDE je 1 500 nástřiků [23].

2.4.5 Headspace techniky

Analýza headspace (HS) je extrakční technika těkavých látek, obsažených v plynné fázi, která je ve styku s analyzovanou kondenzovanou fází. Princip spočívá v jímání těkavých složek, které unikají z kapaliny, do plynné fáze. Metodou headspace lze analyzovat homogenní i nehomogenní materiály [6].

2.4.5.1 Statická headspace

Headspace je plynná fáze nad pevnou fází nebo kapalinou ve vialce uzavřené septem. Těkavé složky se rozptýlí v plynné fázi v koncentracích, které odpovídají jejich tlaku par. Koncentrace sloučenin v headspace závisí na těkavosti, koncentraci v původním vzorku, rozpustnosti a teplotě [24], [25].

2.4.5.2 Dynamická headspace

Rovnovážný stav mezi plynnou fází a vzorkem způsobuje relativně nízkou citlivost statické headspace. U dynamické headspace plyn probublává kapalným vzorkem a strhává s sebou těkavé látky, čímž se zvyšuje výtěžek materiálu k další analýze. Desorpce probíhá nejčastěji tepelně [24], [25].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiál

Pro extrakci silic byly použity byliny z čeledi Hluchavkovitých, máta peprná a levandule lékařská. Byly v sušeném stavu zakoupeny v obchodní síti. Tyto vzorky byly zakoupeny pod komerčním názvem Máťový čaj (*Menthae herba*) a Levandule květ (*Lavandulae flos*). Použit byl také vzorek levandule vypěstované v domácí zahradě a nasušené.

3.2 Použité laboratorní vybavení

- aparatura pro destilaci s vodní parou (Merci)
- topné hnízdo
- analytické váhy (Sartorius)
- běžné laboratorní sklo
- vialky, mikropipety
- plynový chromatograf Trace Ultra s hmotnostním detektorem (Thermo Scientific)
- kolona SLB-5 MS (Supelco)

3.3 Chemikálie

- nosný plyn helium
- hexan (CAS: 110-54-3, SIGMA-ALDRICH)
- deionizovaná voda
- standardy:
 - menthol (CAS: 89-78-1, SIGMA-ALDRICH)
 - limonen (CAS: 5989-54-8, SIGMA-ALDRICH)
 - cineol (CAS: 470-67-7, SIGMA-ALDRICH)
 - menthon (CAS: 10458-14-7, SIGMA-ALDRICH)
 - menthofuran (CAS: 17957-94-7, SIGMA-ALDRICH)
 - menthyl-acetát (CAS: 2623-23-6, SIGMA-ALDRICH)
 - isopulegol (CAS: 89-79-2, SIGMA-ALDRICH)
 - pulegon (CAS: 89-82-7, SIGMA-ALDRICH)
 - karvon (CAS: 2244-16-8, SIGMA-ALDRICH)
 - linalool (CAS: 78-70-6, SIGMA-ALDRICH)
 - kafr (CAS: 464-48-2, SIGMA-ALDRICH)
 - borneol (CAS: 464-43-7, SIGMA-ALDRICH)
 - α -terpineol (CAS: 98-55-5, SIGMA-ALDRICH)
 - linalyl-acetát (CAS: 115-95-7, SIGMA-ALDRICH)

3.4 Pracovní postup

3.4.1 Příprava extraktů

3.4.1.1 Destilace s vodní parou

Vzorky bylin byly naváženy (cca 25 g) do destilační baňky s 250 ml deionizované vody. Směs byla dostatečně zhomogenizovaná. Následně byla sestavena aparatura k destilaci

s vodní parou a varná baňka byla přivedena k varu. Destilace probíhala čtyři hodiny. Získané silice byly dále analyzovány plynovým chromatografem s hmotnostní detekcí.

3.4.2 Příprava standardních roztoků

3.4.2.1 *Silice mátová*

Do 10 ml odměrné baňky byly na analytických vahách naváženy standardy (viz Tabulka 4) a baňka byla hexanem doplněna po rysku. Takto připravený pracovní roztok standardů byl naředěn (1 μ l standardního roztoku do 1 ml hexanu) a použit k chromatografické analýze.

Tabulka 4: Navážky standardů - silice mátová

Analyt	Navážka [mg]
limonen	8,41
cineol	18,42
isopulegol	18,24
menthon	35,84
menthofuran	9,70
menthol	88,77
pulegon	18,70
karvon	9,60
menthyl-acetát	36,88

3.4.2.2 *Silice levandulová*

Do 25 ml odměrné baňky byly na analytických vahách naváženy standardy (viz Tabulka 5) a baňka byla hexanem doplněna po rysku. Takto připravený pracovní roztok standardů byl naředěn (1 μ l standardního roztoku do 1 ml hexanu) a použit k chromatografické analýze.

Tabulka 5: Navážky standardů - silice levandulová

Analyt	Navážka [mg]
limonen	21,05
cineol	44,06
linalool	57,67
kafr	24,13
borneol	39,35
α -terpineol	21,70
linalyl-acetát	43,46

3.4.3 Analýza extraktu silic

3.4.3.1 *Příprava vzorku silice*

Do 10 ml odměrné baňky bylo napipetováno cca 9 ml hexanu. Mikrostříkačkou byl pod hladinu hexanu nadávkován 1 μ l silice a odměrná baňka byla hexanem doplněna po rysku. Z takto připraveného vzorku byl odebrán asi 1 ml do vialky (2 ml) a ta byla uzavřena víčkem se septem. Takto připravený vzorek byl analyzován plynovou chromatografií (GC-MS).

3.4.3.2 GC-MS

Pro analýzu byl použit plynový chromatograf Trace Ultra s hmotnostní detekcí. Podmínky chromatografické analýzy jsou uvedeny v tabulce dole. Každý vzorek byl analyzován dvakrát.

Tabulka 6: Podmínky chromatografické analýzy

Plynový chromatograf:	Trace Ultra – Thermo Scientific
Kolona:	kapilární kolona SLB-5MS (60m x 0,25 mm x 0,25 μ m)
Nosný plyn:	helium – 1,5 ml/min
Teplotní program:	50°C (0,1 min), nárůst 3°C/min. do 150°C (10 min), nárůst 10°C/min. do 200°C (5 min)
Teplota injektoru:	250°C, splitless: 1 min
Objem vzorku:	1 μ l
Detektor MS:	Trace DSQ – Thermo Scientific
Teplota iontového zdroje	200°C
Ionizační energie:	70 eV
Sken m/z:	20 – 450

3.5 Validace metody

Validace je proces, při kterém se dokazuje, zda analytický proces nebo jeho část probíhá standardním způsobem tak, že odchylky splňují požadovaná kritéria [28].

3.5.1 Mez detekce

Mez detekce (LOD) odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu. V separačních metodách se určuje jako trojnásobek šumu základní linie [29].

$$\text{LOD} = 3 \cdot \frac{h_n}{m}, \text{ kde:}$$

h_n ... šum na základní linii, m ... směrnice kalibrační přímky

3.5.2 Mez stanovitelnosti

Mez stanovitelnosti (LOQ) odpovídá koncentraci při které je přesnost taková, že dovoluje kvantitativní vyhodnocení. V separačních metodách se určuje jako desetinásobek šumu základní linie [29].

$$\text{LOQ} = 10 \cdot \frac{h_n}{m}, \text{ kde:}$$

h_n ... šum na základní linii, m ... směrnice kalibrační přímky

3.5.3 Aritmetický průměr

Aritmetický průměr je definován vztahem [30]:

$$\bar{x} = \frac{1}{n}(x_1 + x_2 + \dots + x_n) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i.$$

3.5.4 Směrodatná odchylka

Směrodatná odchylka je mírou přesnosti série paralelních výsledků a je definována vztahem [30]:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}.$$

3.5.5 Relativní směrodatná odchylka

Relativní směrodatná odchylka se uvádí v procentech a udává rozptýlení od aritmetického průměru [30]:

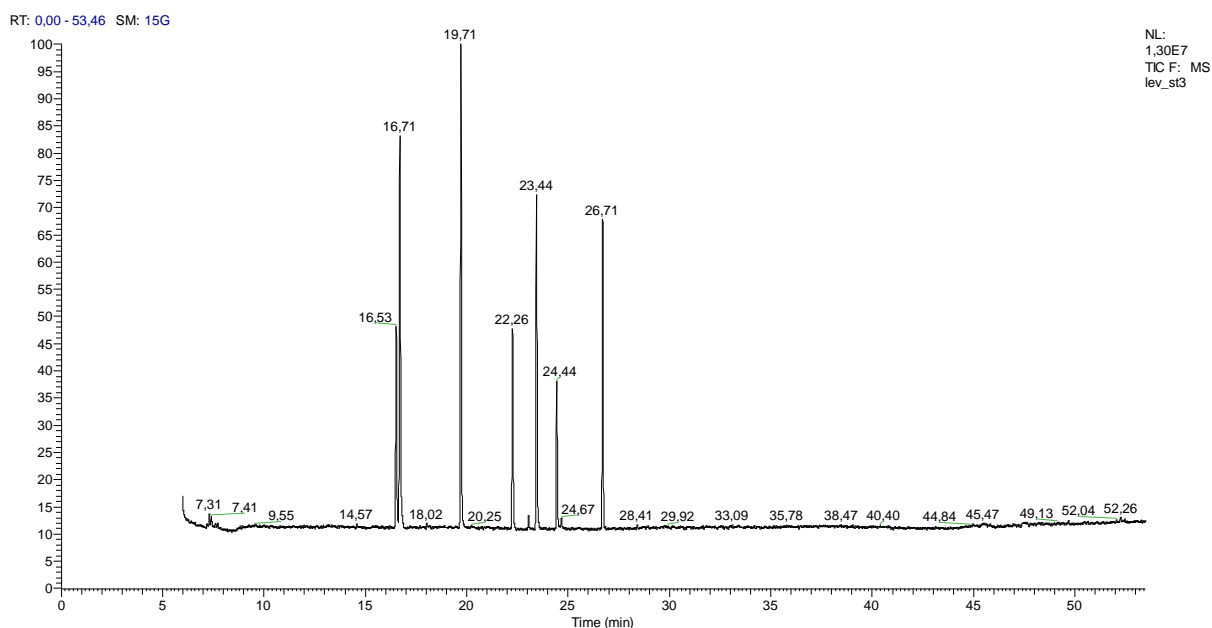
$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 [\%].$$

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

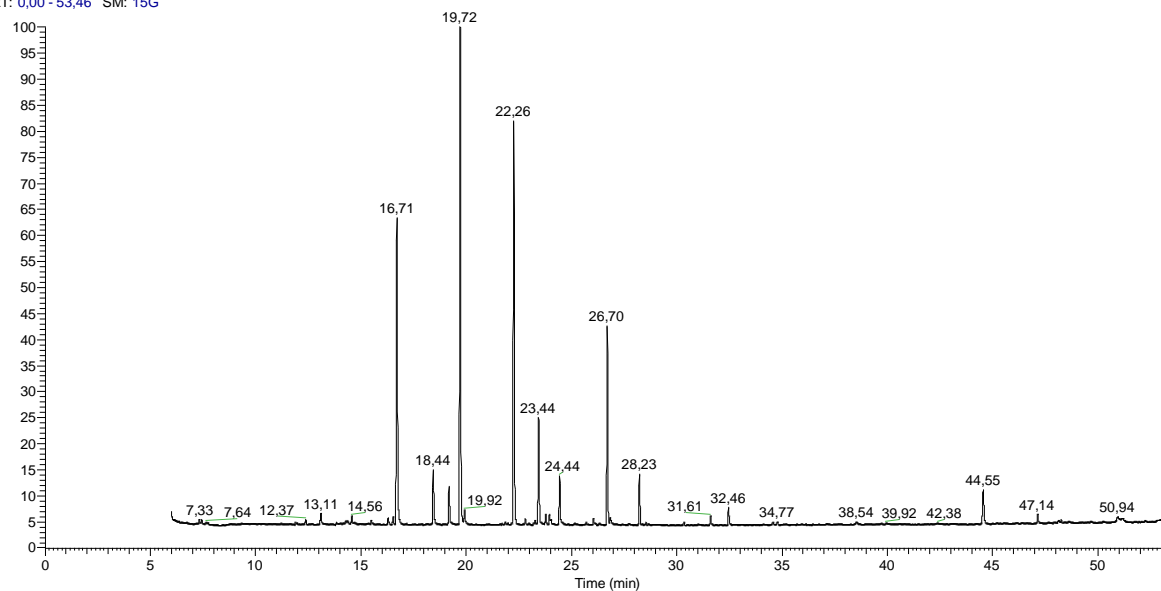
Proběhlo analyzování extraktů sušených bylin z čeledi Hluchavkovitých, máty peprné a levandule lékařské, jejichž silice byly získány destilací s vodní parou. Tato metoda byla zvolena, jelikož se v mnohých literaturách uvádí jako metoda nejúčinnější při extrakci silic.

Vyextrahované silice byly analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí a byly zjištěny obsahové látky silic máty a levandule.

Chromatogram standardu levandulové silice je na obrázku (Obrázek 8). Ukázkový chromatogram levandulové silice vzorku zakoupeného v obchodní síti je uveden na obrázku (Obrázek 9) a chromatogram silice vzorku vypěstovaného na domácí půdě je na obrázku (Obrázek 10). Látky, které silice obsahovaly, jsou uvedeny v procentuálním zastoupení v tabulkách pod chromatogramey.

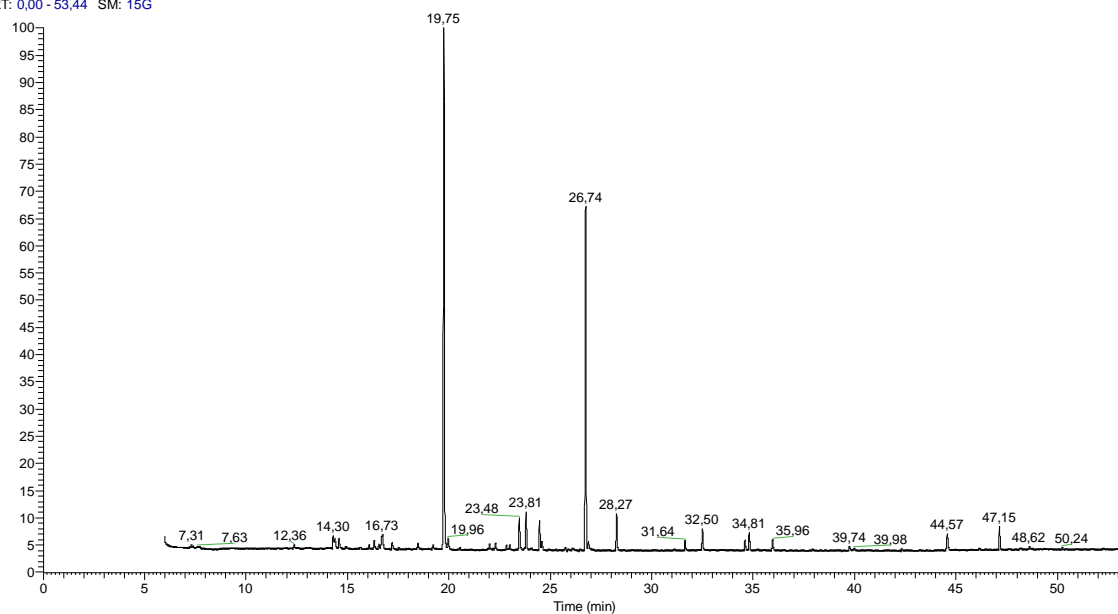


Obrázek 8: Chromatogram standardu, levandulová silice



NL:
3,11E7
TIC F: MS
lev_vz1

Obrázek 9: Chromatogram levandulové silice, vzorek zakoupen v obchodní síti



NL:
4,24E7
TIC F: MS
lev_vza

Obrázek 10: Chromatogram levandulové silice, vzorek vypěstován na domácí půdě

Tabulka 7: Výsledky - vzorek levandule 1, zakoupen v obchodní síti

		analýza 1	analýza 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	0,52	0,47	0,5
cineol	16,71	20,56	20,98	20,8
linalool	19,71	29,49	31,95	30,7
kafr	22,26	25,47	27,04	26,3
borneol	23,43	7,20	6,78	7,0
α -terpineol	24,44	3,15	3,09	3,1
linalyl-acetát	26,70	11,05	12,22	11,6

Tabulka 8: Výsledky - vzorek levandule 2, zakoupen v obchodní síti

		analýza 1	analýza 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	0,60	0,62	0,6
cineol	16,71	21,07	19,45	20,3
linalool	19,71	31,62	30,38	31,0
kafr	22,26	24,94	27,02	26,0
borneol	23,43	7,20	6,85	7,0
α -terpineol	24,44	2,81	2,87	2,8
linalyl-acetát	26,70	11,72	12,87	12,3

Tabulka 9: Výsledky - vzorek levandule A, domácí vypěstovaná

		analýza 1	analýza 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	0,46	0,51	0,5
cineol	16,71	1,32	1,37	1,3
linalool	19,71	55,59	56,71	56,2
kafr	22,26	0,80	0,72	0,8
borneol	23,43	3,60	3,35	3,5
α -terpineol	24,44	2,90	3,03	3,0
linalyl-acetát	26,70	34,47	35,16	34,8

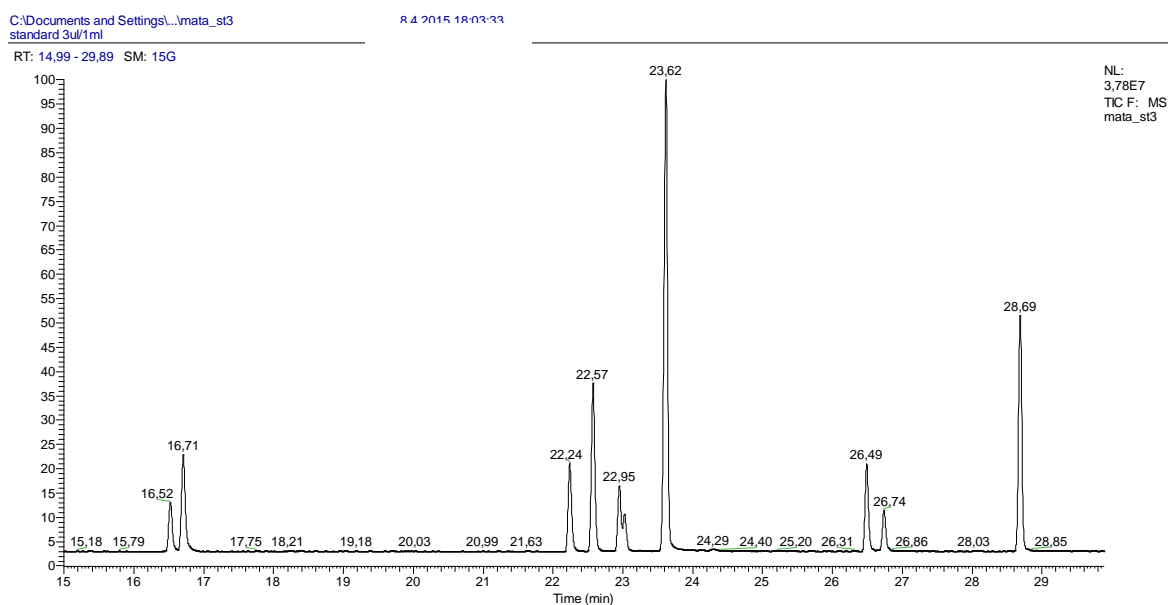
Tabulka 10: Výsledky - vzorek levandule B, domácí vypěstovaná

		analýza 1	analýza 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	0,42	0,38	0,4
cineol	16,71	0,61	0,62	0,6
linalool	19,71	65,89	67,22	66,6
kafr	22,26	0,82	0,84	0,8
borneol	23,43	4,13	4,29	4,2
α -terpineol	24,44	6,16	5,66	5,9
linalyl-acetát	26,70	20,73	22,21	21,5

Z výsledků je patrné, že vzorky levandule zakoupené v obchodní síti obsahovaly v největším množství linalool (30 %), kafr (26 %), cineol (20,5 %) a linalyl-acetát (12 %). Vzorky levandule, vypěstované a sušené v domácích podmínkách, se obsahem těchto látek výrazně lišily. V největším množství tato silice obsahovala linalool (60 %) a linalyl-acetát (27 %). Množství kafru (0,8 %) a cineolu (0,9 %) významně pokleslo. Literatura uvádí, že průměrné množství kafru v levandulové silici se pohybuje v rozmezí (méně než 1,2 %) a průměrné množství cineolu v rozmezí (méně než 2,5 %). Obsah limonenu byl u všech vzorků přibližně stejný (0,5 %), stejně tak jako α -terpineol (3,0 %). Obsah borneolu byl u vzorků z obchodní sítě vyšší (7,0 %) než u vzorků vypěstovaných a sušených v domácích podmínkách (3,8 %).

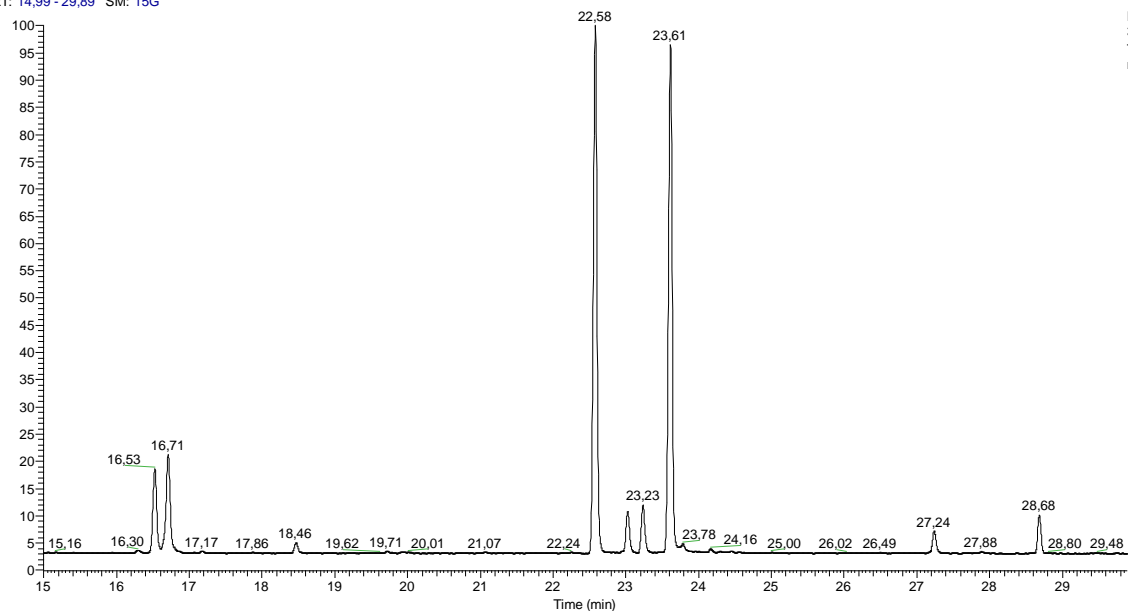
Tyto rozdíly mohly být způsobeny odlišnými podmínkami při pěstování a rozdílnými klimatickými podmínkami.

Chromatogram standardu mátové silice je uveden na obrázku (Obrázek 11). Ukázkový chromatogram mátové silice vzorku M1 zakoupeného v obchodní síti je na obrázku (Obrázek 12) a vzorku MAT1 na obrázku (Obrázek 13). Látky, které silice obsahovaly, jsou uvedeny v procentuálním zastoupení v tabulkách pod chromatogramy.



Obrázek 11: Chromatogram standardu, silice mátová

RT: 14,99 - 29,89 SM: 15G



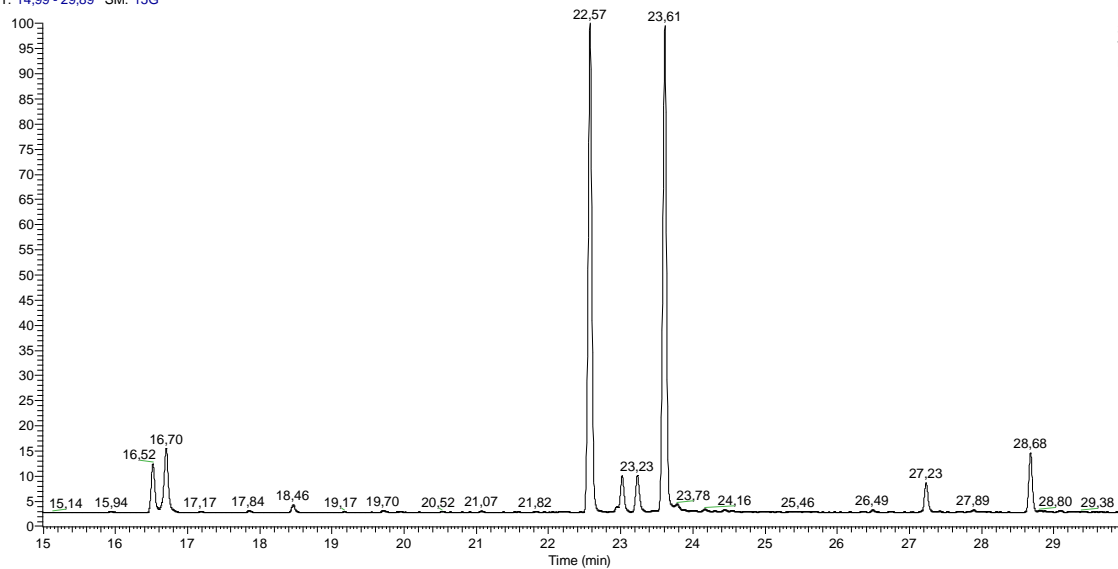
NL:
3,50E7
TIC F: MS
mata_vz1

Obrázek 12: Chromatogram, vzorek máta M1

c:\documents and settings\...\mata_mat1
vzorek_mata_mat1_1u\10ml

9.4.2015 10:53:23

RT: 14,99 - 29,89 SM: 15G



NL:
3,40E7
TIC F: MS
mata_mat1

Obrázek 13: Chromatogram, vzorek máta MAT1

Tabulka 11: Výsledky - máta, vzorek M1

		analýza 1	analýza 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	7,09	6,42	6,75
cineol	16,72	7,83	8,49	8,16
isopulegol	22,27	<0,01	<0,01	<0,01
menthon	22,57	40,80	42,47	41,63
menthofuran	22,95	0,08	0,07	0,07
menthol	23,61	40,97	40,16	40,57
pulegon	26,49	<0,01	<0,01	<0,01
karvon	26,74	0,00	0,00	0,00
menthyl-acetát	28,68	2,76	2,87	2,81

Tabulka 12: Výsledky - máta, vzorek M2

		nástřik 1	nástřik 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	6,68	6,52	6,60
cineol	16,72	8,48	8,04	8,26
isopulegol	22,27	<0,01	<0,01	<0,01
menthon	22,57	43,47	45,88	44,67
menthofuran	22,95	0,07	0,00	0,03
menthol	23,61	38,73	37,06	37,90
pulegon	26,49	0,07	0,02	0,04
karvon	26,74	<0,01	<0,01	<0,01
menthyl-acetát	28,68	2,51	2,49	2,50

Tabulka 13: Výsledky - máta, vzorek MAT1

		nástřik 1	nástřik 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	4,21	3,81	4,01
cineol	16,72	5,66	5,38	5,52
isopulegol	22,27	<0,01	<0,01	<0,01
menthon	22,57	42,03	43,74	42,88
menthofuran	22,95	0,39	0,35	0,37
menthol	23,61	42,92	41,23	42,08
pulegon	26,49	0,19	0,17	0,18
karvon	26,74	0,08	0,07	0,07
menthyl-acetát	28,68	5,13	4,64	4,88

Tabulka 14: Výsledky – máta, vzorek MAT2

		nástřik 1	nástřik 2	průměr
Analyt	RT	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]	Obsah [rel. %]
limonen	16,52	4,73	4,28	4,50
cineol	16,72	6,80	7,36	7,08
isopulegol	22,27	<0,01	<0,01	<0,01
menthon	22,57	45,47	47,33	46,40
menthofuran	22,95	0,30	0,27	0,28
menthol	23,61	37,24	36,50	36,87
pulegon	26,49	0,14	0,12	0,13
karvon	26,74	0,05	0,05	0,05
menthyl-acetát	28,68	4,59	4,78	4,68

Z výsledků je patrné, že všechny vzorky máty obsahují nejvíce menthonu (44 %), mentholu (39 %) a naopak nejméně isopulegolu (< 0,01 %) a karvonu, kterého bylo ve vzorku M1 a M2 detekováno zanedbatelné množství (< 0,01 %) a ve vzorku MAT1 a MAT2 množství (0,06 %). Všechny vzorky máty měly také nízký obsah pulegonu, který se u vzorků s označením M (0,04 %) lišil od vzorků označených MAT (< 0,15 %). Vzorky M1 a M2 obsahovaly o nepatrně množství víc limonenu (6,70 %) než vzorky MAT1 a MAT2 (4,25 %). Lišil se také obsah menthyl-acetátu ve vzorku MAT1 a MAT2 (4,7 %) oproti vzorku M1 a M2 (2,65 %). Obsah cineolu byl u všech vzorků téměř stejný (7,5 %), jen vzorek MAT1 se lišil (5,52 %). Literatura uvádí, že obsah limonenu by měl být v rozmezí (1,0 až 5,0 %) a cineolu (3,5 až 14,0 %). Poměr obsahu cineolu k obsahu limonenu by měl být větší než 2. Největší obsah by měl být mentholu (30,0 až 50,0 %) a menthonu (14,0 až 32,0 %). Nejméně zastoupen by měl být karvon a to nejvýše 1 %.

Všechny tyto rozdíly mají vliv na aroma byliny. Mohly být způsobeny rovněž odlišnými podmínkami pěstování nebo podmínkami klimatickými.

5 ZÁVĚR

Destilací s vodní parou byly získány silice máty peprné a levandule lékařské.

Pro analýzu obsahových látek vyizolovaných ze silic dvou vybraných bylin, byla zvolena plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostním detektorem. Bylo zjišťováno, jaké látky silice obsahují, kterých z nich tam bylo nejvíce a které se prokázaly v obou bylinách a v jakém množství.

V levandulové silici bylo identifikováno 7 obsahových látek, a to limonen, cineol, linalool, kafr, borneol, α -terpineol a linalyl-acetát. V největším množství byly ve vzorku z obchodní sítě prokázány tyto látky, cineol, linalool, a kafr. Ve vzorku vypěstovaném na domácí půdě bylo prokázáno nejvíce linaloolu a linalyl-acetátu.

V mátové silici bylo identifikováno celkem 9 obsahových látek, a to limonen, cineol, isopulegol, menthon, menthofuran, menthol, pulegon, karvon a menthyl-acetát. Z nichž v největším množství silice obsahovala menthon a menthol.

V porovnání vyskytujících se látek v obou silicích se zjistilo, že jak levandule, tak máta, obsahují cineol a limonen. Levandulová silice však obsahuje menší množství limonenu a vzorek levandule z obchodní sítě obsahuje mnohonásobně větší množství cineolu než ostatní vzorky máty a levandule. Vše bylo určeno na základě velikostí ploch jednotlivých píků.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] VONÁŠEK, F., TREPKOVÁ, E., NOVOTNÝ, L.: *Látky vonné a chuťové*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987. 437 s.
- [2] BREMNESS, Lesley. *Bylinář: zdraví, krása a radost*. 1. vyd. Překlad Václav Větvíčka. Ilustrace Jill Dow, Lorraine Harrison. Praha: Fortuna Print, 1994, 286 s. ISBN 80-858-7300-1.
- [3] NIKOLIĆ, Miloš, Katarina K. JOVANOVIĆ, Tatjana MARKOVIĆ, Dejan MARKOVIĆ, Nevenka GLIGORIJEVIĆ, Siniša RADULOVIĆ a Marina SOKOVIĆ. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. *Industrial Crops and Products* [online]. 2014, vol. 61, č. 112, s. 225-232 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.07.011. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669014004300>
- [4] ZELENÝ, Václav. *Rostliny Středozeří*. Vyd. 1. Praha: Academia, 2005, 401 s. Campanula. ISBN 80-200-1224-9.
- [5] PAMPLONA ROGER, Jorge D. *Encyklopedie léčivých rostlin*. Vyd. 1. Praha: Advent-Orion, 2008, 385 s. Zdraví pro třetí tisíciletí, 3. ISBN 978-807-1721-192.
- [6] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 80-902-3912-9.
- [7] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1990, 384 s. ISBN 80-030-0569-8.
- [8] CUYPER, Marcel de a Jeff W BULTE. *Physics and chemistry basis of biotechnology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, c2001, 334 p. ISBN 07-923-7091-0.
- [9] CHIN, Sung-Tong, Graham T. EYRES a Philip J. MARRIOTT. Cumulative solid phase microextraction sampling for gas chromatography-olfactometry of Shiraz wine. *Journal of Chromatography A* [online]. 2012, vol. 1255, s. 221-227 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.03.084. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967312005134>
- [10] PAWLISZYN, Janusz. *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. New York: Wiley-VCH, 1997, 247 s. ISBN 04-711-9034-9.
- [11] √ Pianta Aromatiche, Coltivare Aromatiche, Pianta Officinali | Le Pianta Aromatiche.it. In: [13] √ *Pianta aromatiche da giardino: ecco le più ricercate | Le Pianta Aromatiche.it*. In: [online]. 2013 [cit. 2015-04-28]. Dostupné z: <http://www.lepiantearomatiche.it/piante-aromatiche/piante-aromatiche->
- [12] Sunland Herbs, Grown in the Southwest for the Southwest. In: [14] *LAVENDERS & LAVANDINS*. In: [online]. 1999 [cit. 2015-04-28]. Dostupné z: <http://www.sunlandherbs.com/about/lavenders-lavandins/>
- [13] Lékopis - Lavandulae etheroleum. *Český lékopis 1997* [online]. 1997 [cit. 2015-04-05]. Dostupné z: <http://lekopis.cz/>
- [14] Lékopis - Menthae piperitae etheroleum. *Český lékopis 1997* [online]. 1997 [cit. 2015-04-05]. Dostupné z: <http://lekopis.cz/>

- [15] Přístroj na stanovení silic v drogách | Kavalierglass a.s. In: *Domácenské a technické sklo* [online]. 2010 [cit. 2015-04-05]. Dostupné z: http://www.kavalier.cz/cz/laboratorni-pristroje-sklenene_pristroj-na-stanoveni-silic-v-drogach_technicke-sklo_laboratorni-sklo.html
- [16] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. Vyd. 1. V Brně: Vutium, 2000, 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [17] CHURÁČEK, Jaroslav. *Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod*. 1. vyd. Praha: Academia, 1993, 387 s. ISBN 80-200-0010-0.
- [18] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999, 348 s. ISBN 80-902-4329-0.
- [19] BOEHM, Stanislav. *Strukturní analýza organických sloučenin*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1995, 152 s. ISBN 80-708-0235-9.
- [20] PAWLISZYN, Edited by Janusz. *Handbook of solid phase microextraction*. Beijing: Chemical Industry Press, 2009. ISBN 978-712-2047-014.
- [21] Extrakce za zvýšené teploty - Labicom - laboratorní přístroje a příslušenství, poradenská a servisní činnost. *Labicom - laboratorní přístroje a příslušenství, poradenská a servisní činnost* [online]. 1999 [cit. 2015-04-28]. Dostupné z: <http://www.labicom.cz/extrakce-za-zvysene-teploty-283/>
- [22] Chemické nástroje detektivů – Seriál o detektivní chemii – KSICHT. 1999. *O KSICHTu* [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z: <http://ksicht.natur.cuni.cz/serialy/detektivni-chemie/2>
- [23] SPDE - Labicom - laboratorní přístroje a příslušenství, poradenská a servisní činnost. 2015. *Labicom - laboratorní přístroje a příslušenství, poradenská a servisní činnost* [online]. [cit. 2015-05-06]. Dostupné z: <http://www.labicom.cz/spde-86/>
- [24] CUYPER, Marcel de a Jeff W BULTE. 2001. *Physics and chemistry basis of biotechnology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 334 p. ISBN 07-923-7091-0.
- [25] TAYLOR, A. 2002. *Food flavour technology*. Boca Raton, FL: Blackwell Publishing, xiv, 302 p. ISBN 18-412-7224-8.
- [26] HÁLKOVÁ, Jana. 2001. *Analýza potravin: treaties and international agreements registered or filed and recorded with the Secretariat of the United Nations*. 2. vyd. Újezd u Brna: Ivan Straka, 94 s. ISBN 80-864-9402-0.
- [27] KADLEC, Pavel. 2002. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 236 s. ISBN 80-708-0510-2.
- [28] Validace výrobních procesů | Laboratorní technika LAB-MET. 2010. *Laboratorní přístroje, laboratorní vybavení | Laboratorní technika LAB-MET* [online]. [cit. 2015-05-10]. Dostupné z: <http://www.labmet.cz/validace-proces%C5%AF>
- [29] MEZ DETEKCE A MEZ STANOVITELNOSTI V HPLC. 1997. */HPLC/High Performance Liquid Chromatography/* [online]. [cit. 2015-05-10]. Dostupné z: http://www.hplc.cz/Tip/lod_loq.htm
- [30] HENDL, Jan. 2004. *Přehled statistických metod zpracování dat: analýza a metaanalýza dat*. 1. vyd. Praha: Portál, 583 s. ISBN 80-717-8820-1.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

SPE	Extrakce tuhou fází (Solid-phase extraction)
SPME	Mikroextrakce tuhou fází (Solid-phase microextraction)
DI-SPME	Přímá SPME (Direct immersing SPME)
HS-SPME	Headspace SPME
SPDE	Dynamická extrakce tuhou fází (Solid-phase dynamic extraction)
GC	Plynová chromatografie (Gas chromatography)
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass spectrometry)
TCD	Tepelně-vodivostní detektor (Thermal conductivity detector)
FID	Plamenový-ionizační detektor (Flame ionization detector)
ECD	Detektor elektronového záchytu (Electron capture detector)
HPLC	Vysokoučinná k. chromatografie (High-performance liquid chromatography)
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie (Ultraviolet-visible spectroscopy)
LOD	Mez detekce (Limit of detection)
LOQ	Mez stanovitelnosti (Limit of quantification)